

#### USO PREVISTO

El kit Prolex™ estreptocócico Xtra Select aporta una plataforma rápida para la identificación serológica de estreptococos beta-hemolíticos pertenecientes a los grupos de Lancefield A y B.

#### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Estudios clínicos, epidemiológicos y microbiológicos han demostrado de forma concluyente la necesidad de un método de identificación más rápido para estreptococos fundamentalmente de los grupos A y B debido a la elevada prevalencia y asociación con las enfermedades humanas. El diagnóstico de las infecciones estreptocócicas basado en los síntomas clínicos siempre exige verificación microbiológica (4). Los estreptococos beta-hemolíticos son los patógenos humanos aislados con más frecuencia entre los representantes del género *Streptococcus*. Casi todos los estreptococos beta-hemolíticos poseen antígenos carbohidratos específicos (antígenos del grupo estreptocócico). Lancefield demostró que estos antígenos pueden extraerse en forma soluble e identificarse mediante reacciones de precipitación con antisueros homólogos. Actualmente se utilizan diferentes procedimientos para la extracción de los antígenos estreptocócicos (1,2,6,7,10,11,12). El Kit Prolex™ Xtra Select estreptocócico se basa en la liberación de antígenos específicos de las paredes celulares de las bacterias mediante la acción de enzimas líticas. El antígeno extraído conjuntamente con la aglutinación de látex ofrece un método rápido, sensible y específico para la identificación de los grupos estreptocócicos A y B de placas de cultivo primarias.

#### PRINCIPIO DEL TEST

Los métodos de determinación de grupos del Kit Prolex™ Xtra Select estreptocócico conllevan la extracción enzimática de antígenos de carbohidratos específicos de grupo usando enzimas líticas seleccionadas especialmente. El Reactivo de Extracción Xtra Estreptocócico proporcionado en el kit contiene una formulación patentada de las enzimas líticas capaces de extraer antígenos específicos de grupos estreptocócicos a temperatura ambiente. Los extractos pueden identificarse fácilmente usando partículas de látex de poliestireno azul sensibilizadas con inmunoglobulinas de conejo purificadas específicas de grupo. Estas partículas de látex azul se aglutinan fuertemente en presencia del antígeno homólogo y no se aglutinan cuando el antígeno homólogo está ausente.

#### MATERIALES SUMINISTRADOS

Cada kit es suficiente para 120 tests. Los materiales se suministran listos para usar.

- **Reactivos de látex:** El consumidor elige qué dos viales de reactivos de determinación de grupos de látex azul desean en el kit. Cada frasco gotero contiene 3,0 ml de partículas de látex azul revestidas con anticuerpos de conejo purificados frente a los grupos de Lancefield A o B. Las partículas de látex azul están suspendidas en un tampón de pH 7,4 que contiene azida sódica al 0,098% como conservante. Los reactivos de látex disponibles son:

Reactivo	Número de catálogo
Reactivo de látex de grupo A	PL.1031
Reactivo de látex de grupo B	PL.1032

- **Reactivo de extracción estreptocócico Xtra (PL.1037):** Dos frascos goteros con 6,0 ml de reactivo de extracción con conservante.
- **Control positivo polivalente (PL.1040):** Un frasco gotero con 2 ml de antígenos polivalentes listos para usar extraídos de estreptococos inactivados de los grupos de Lancefield A, B, C, D, F y G.
- Palillos de mezcla de plástico
- Tarjetas de test
- Instrucciones de uso

#### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Asas o agujas de inoculación
- Pipetas de Pasteur
- Tubos de ensayo de 12 mm x 75 mm
- Temporizador

#### ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Todos los componentes del kit deben conservarse a 2°C. a 8°C. Los reactivos conservados en estas condiciones permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que se muestra en la etiqueta del producto. No congelar.

#### PRECAUCIONES

1. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.
2. Algunos reactivos contienen una pequeña cantidad de azida sódica. La azida sódica puede reaccionar explosivamente con las tuberías de cobre o plomo si se permite que se acumule. Aunque la cantidad de azida sódica en los reactivos es mínima, debe utilizarse una gran cantidad de agua si se eliminan los restos de reactivos por el desagüe.
3. Deben adoptarse precauciones universales al manipular, procesar y desechar todas las muestras clínicas. Todos los materiales del test deben considerarse potencialmente infecciosos durante y después del uso y deben manipularse y eliminarse adecuadamente.
4. Los reactivos están pensados para un uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.
5. Para obtener resultados válidos deben seguirse los procedimientos, condiciones de conservación, precauciones y limitaciones especificadas en estas instrucciones de uso.
6. Los reactivos contienen material de origen animal y deben manejarse como potenciales portadores y transmisores de enfermedades.

#### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS

Para procedimientos específicos sobre la recogida y preparación de las muestras de los cultivos primarios, véase un libro de texto estándar de microbiología. Debe utilizarse un cultivo nuevo (18-24 horas) en agar sangre.

#### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Todos los componentes deben estar a temperatura ambiente (18-22°C) antes de su uso.

1. Resuspender las partículas de látex invirtiendo varias veces con suavidad el frasco gotero. Examinar el frasco gotero para comprobar que las partículas de látex estén bien suspendidas antes del uso. No usar si no es posible resuspender las partículas de látex.
2. Marcar un tubo de ensayo para cada aislado que se vaya a estudiar.

3. Añadir 2 gotas del reactivo de extracción estreptocócico Xtra a cada tubo.
4. Seleccionar una colonia beta-hemolítica usando un asa o aguja desechable y suspenderla en el reactivo de extracción estreptocócico Xtra. En todos los casos, la colonia estreptocócica debe tomarse de un área que permitirá la menor probabilidad de contaminación con otro organismo.
5. Mezclar la reacción golpeando suavemente el tubo y desarrollar durante 60 segundos.
6. Dispensar una gota de cada reactivo de látex de grupo en círculos separados en la tarjeta de test.
7. Utilizando una pipeta de Pasteur, poner una gota de extracto junto a cada gota de reactivo de látex.
8. Mezclar el látex y el extracto con los palillos suministrados, usando el área completa del círculo. Debe utilizarse un nuevo palillo para cada test.
9. Balancear suavemente la tarjeta, permitiendo que la mezcla fluya lentamente sobre la superficie entera del círculo de reacción.
10. Observar si se produce aglutinación durante hasta 30 segundos.

#### PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

El procedimiento rutinario de control de calidad de cada lote Prolex™ conlleva el estudio de los reactivos de látex azul y el reactivo de extracción estreptocócico Xtra con cada grupo estreptocócico A y B usando las cepas ATCC o equivalentes, como se indica en esta sección. El extracto de estas cepas se aglutinará con el reactivo de látex homólogo. Se usa el control positivo polivalente para estudiar los reactivos de látex individuales.

Organismo	Grupo de Lancefield	Referencia
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Grupo A	ATCC #19615
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Grupo B	ATCC #12386

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**Resultados positivos:** La aglutinación fuerte rápida de las partículas de látex azul en 30 segundos con uno de los reactivos de látex indica la identificación específica del aislado estreptocócico.

**Resultados negativos:** Ninguna aglutinación de las partículas de látex azul.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Pueden producirse falsos negativos y falsos positivos si el kit no se utiliza según lo indicado y si se utiliza una cantidad de cultivo indebida para la extracción.
2. El kit está pensado para uso exclusivo en la identificación de estreptococos beta-hemolíticos. Si se estudian estreptococos alfa o no hemolíticos, la identificación debe confirmarse mediante pruebas bioquímicas (5,9).
3. Se sabe que se han producido reacciones falsas positivas con organismos de géneros no relacionados, p. ej. *Escherichia coli*, *Klebsiella* o *Pseudomonas* (3,8). Es probable que aglutinen de forma inespecífica todos los reactivos de látex.
4. *Listeria monocytogenes* podría reaccionar de forma cruzada con reactivos de látex estreptocócicos del grupo B, porque *L. monocytogenes* muestra una antigenia similar a los estreptococos del grupo B. Puede realizarse la prueba de catalasa para distinguir entre *Listeria*, que son catalasa positivas y estreptococos, que son catalasa negativos. Pueden

realizarse tinción de Gram y pruebas de motilidad como adyuvantes para la diferenciación.







5. Algunas cepas de *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) normalmente no hemolíticas poseen antígenos A, C, F o G y producirán una reacción positiva con reactivos de látex Strep A, C, F o G. Deben utilizarse pruebas bioquímicas y de morfología en agar sangre para identificar estos organismos.

#### CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

El Kit Estreptocócico Xtra Select Prolex™ se estudió en cuanto rendimiento en hospitales del Reino Unido usando 293 aislados de estreptococos beta-hemolíticos. Los aislados incluyeron 61 *Streptococcus pyogenes* (Estreptococos de grupo A de Lancefield), 91 *Streptococcus agalactiae* (Estrep. ee grupo B de Lancefield), 19 *Streptococcus* sp. de grupo C, 65 *Enterococcus faecalis* de grupo D, 4 *Streptococcus* sp. de grupo F y 53 *Streptococcus* de grupo G. El kit demostró una sensibilidad y especificidad del 100% en ambos reactivos de látex cuando se estudió frente a los aislados. El tiempo promedio para una reacción positiva con los reactivos de grupo A y grupo B fue de 13 segundos y 12 segundos, respectivamente.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ederer, G.M., Herrmann, M.M., Bruce, R. Matsen, J.M. and Chapman, S.S.** (1972). Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Haemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 23, 285.
2. **EL Kholy, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M.** (1974). Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 28, 836.
3. **Elliot, S.D. and Tai, J.Y.** (1978). The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.*, 148, 1699.
4. **Facklam, R.R.** (1980). Streptococci and Aerococci, Ch. 8 in *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd Ed., Edited by Lennette, E.H. Balows, A., Hausler, W.J., and Truant, J.P. American Society for Microbiology, Washington, D.C. page 88-110.
5. **Facklam R.R.** (1977). Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 184.
6. **Fuller, A.T.** (1938). The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130.
7. **Maxted, W.R.** (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet*, ii, 255.
8. **Nowlan, S.S. and Deibel, R.H.** (1967). Group Q Streptococci. I. Ecology, Serology, Physiology and Relationships to Established Enterococci. *J. Bact.*, 94, 291.
9. **Petts, D.N.** (1984). Early Detection of Streptococci in Swabs by Latex Agglutination Before Culture. *J. Clin. Microbiol.*, 19, 432.
10. **Rantz, L.A. and Randall, E.** (1955). Use of Autoclaved Extracts of Haemolytic Streptococci for Serological Grouping. *Stanford Med. Bull.*, 13, 290.
11. **Watson, B.K., Moellering, R.C. and Kunz, L.J.** (1975). Identification of Streptococci. Use of Lysozyme and *Streptomyces albus* filtrate in the Preparation of Extracts of Lancefield Grouping. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 274.
12. **Slifkin, M., Cumbie, R.** (1987) Serogrouping Single Colonies of Beta-Hemolytic Streptococci with Achropeptidase Extraction. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1555.

	= Fabricante
	= Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	= Contiene suficiente para (n) test
	= Dispositivo para diagnóstico médico In vitro
	= Limite de temperatura
	= Consultar las instrucciones de uso

Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, dirijase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.